Aus der Abteilung für pädiatrische Kardiologie
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. J. Apitz
der Kinderklinik der Universität Tübingen

2,3-DPG IM ERYTHROZYTEN BEI KINDERN MIT ZYANOTISCHEN HERZFEHLERN UNTERSUCHUNGEN ZUR WIRKUNG DER EISENTHERAPIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt
von
Andreas Beiser
aus
Stuttgart

1979

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536516_0019

Aus der Abteilung für pädiatrische Kardiologie
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. J. Apitz
der Kinderklinik der Universität Tübingen

2,3-DPG IM ERYTHROZYTEN BEI KINDERN MIT ZYANOTISCHEN HERZFEHLERN UNTERSUCHUNGEN ZUR WIRKUNG DER EISENTHERAPIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt
von
Andreas Beiser
aus
Stuttgart

1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.-E. Hoffmeister

Berichterstatter: Professor Dr. J. Apitz

Fotodruck H. Resch · Georgstraße 50 · 7402 Kirchentellinsfurt

Für die Überlassung des Themas der
vorliegenden Arbeit möchte ich
Herrn Prof. Dr. J. Apitz
besonders danken.

Ebenfalls sehr zu Dank verpflichtet
für die hilfreiche Unterstützung bin ich
Herrn Dr. H. Moeller.

INHALTSVERZEICHNIS:

		Seite
	Abkürzungen	I
1.	Einleitung	1
1.1	Die physiologische Rolle von 2,3-DPG	1
1.2	Die Regulation der Konzentration von 2,3-Diphosphoglyzerat im Erythrozyt	9
1.3	Zyanotische Herzfehler und 2,3-DPG	13
2.	Patientengut	15
3.	Material und Methode	17
3.1	Material	17
3.2	Methode	18
3.3	Meßvorgang	19
3.4	Wiederfindungsrate	20
3.5	Streuung	20
3.6	Normwerte von 2,3-DPG	21
4.	Ergebnisse	22
5.	Diskussion	31
6.	Zusammenfassung	38
7.	Anhang	39
7.1	Statistik	39
7.2	Statistische Auswertung der Ergebnisse	40
8.	Literaturangaben	42

Abkürzungen:

ADP : Adenosin-diphosphat

ATP : Adenosin-triphosphat

1,3-DPG: 1,3-Diphosphoglyzerat

2,3-DPG: 2,3-Diphosphoglyzerat

E_{240} : Extinktion bei 240 nm

Hb : Hämoglobin (g%)

HbE : Hämoglobingehalt des einzelnen Erythrozyten

Hk : Hämatokrit

K : Gleichgewichtskonstante

MCV : mittleres Erythrozytenvolumen

NAD : Nikotinamid-adenin-dinukleotid

PEP : Phosphoenolpyruvat

3-PGA : 3-Phosphoglyzerat

PGM : Phosphoglyzeratmutase

1. Einleitung:

An der Universitätskinderklinik Tübingen erhielten Kinder mit zyanotischen Herzfehlern, die zum Teil schon einer Korrekturoperation zugeführt worden waren, eine Eisentherapie. Die Untersuchung verschiedener Parameter vor und nach Therapie sollte einen Beitrag zur Klärung der Frage liefern, ob eine Eisentherapie in diesen Fällen sinnvoll ist.

Das Programm sah vor: Untersuchungen über die Auswirkungen der Eisentherapie auf den Eisenstoffwechsel, auf die Erythropoetinbildung, auf das Hämoglobin, auf den Hämatokrit, auf das Erythrozytenvolumen und auf die Viskosität des Blutes. (17, 28, 40)

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob die Eisengabe einen Einfluß auf die Konzentration von 2,3-Diphosphoglyzerat (2,3-DPG) im Erythrozyten hat; ferner, ob Beziehungen zwischen der 2,3-DPG-Konzentration, dem Hämatokrit, der Hämoglobinkonzentration, der Anzahl der Erythrozyten im Vollblut, der arteriellen oder venösen Sauerstoffsättigung oder der arterio-venösen Sauerstoffdifferenz bestehen.

1.1. Die physiologische Rolle von 2,3-DPG

1925 wurde von Greenwald zum ersten Mal 2,3-DPG in den Erythrozyten von Mensch, Schwein und Rind beschrieben.(19) Obwohl zu dieser Zeit schon die außergewöhnlich hohe Konzentration des 2,3-DPG bekannt war, dauerte es bis zum Jahre 1967, bis der Effekt von Phosphatestern auf die Sauerstoffdissoziationskurve entdeckt wurde, und die Bedeutung von 2,3-DPG im Sauerstofftransport und die der hohen Konzentration im Erythrozyten richtig eingeschätzt wurde.(3)

Die Konzentration von 2,3-DPG im Erythrozyten ist ca. 100 mal so hoch wie in anderen glykosierenden Zellen und beträgt durchschnittlich 5 mM/l Ery.

1965 fanden Chanutin und Curnish (13) mit freier Grenzelektrophorese, daß die Zugabe von 2,3-DPG oder ATP zu gereinigtem Hämoglobin eine neue elektrophoretische Komponente ergibt.
Diese Ergebnisse ließen darauf schließen, daß das Hämoglobin die Fähigkeit hat, spezifische Komplexe mit diesen Produkten des Intermediärstoffwechsels zu bilden.

Später konnten von Chanutin und Curnish und von Benesch und Benesch (1967) gezeigt werden (14, 5, 6), daß gerade 2,3-DPG die Fähigkeit hat, die Sauerstoffaffinität von gereinigtem Hämoglobin zu reduzieren.
Benesch und Benesch (5,6) konnten nachweisen, daß dialysiertes Hämoglobin eine höhere Affinität zu Sauerstoff hat, und daß in Anwesenheit von 2,3-DPG die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins reduziert ist. Dadurch kann mehr Sauerstoff bei einem bestimmten Sauerstoffpartialdruck an das Gewebe abgegeben werden. Graphisch imponiert das als Rechtsverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve.

Die Sauerstoffdissoziationskurve gibt den Verlauf der Affinität des Hämoglobins für Sauerstoff wieder.
Bei der Passage des Blutes in einer normalen Lunge steigt der Sauerstoffpartialdruck von 40 mmHg auf annähernd 110 mmHg. Dies reicht aus, um schließlich eine 95% ige Sättigung des arteriellen Blutes zu erreichen.
Der Verlauf der Sauerstoffdissoziationskurve ist so, daß bei einem weiteren Anstieg des Sauerstoffdruckes in der Lunge nur eine sehr geringe Zunahme der Sättigung des Blutes resultiert.
Der Sauerstoffpartialdruck fällt, wenn sich das Blut von der Lunge entfernt, und der Sauerstoff vom Hämoglobin freigesetzt wird.
Bei einem normalen Erwachsenen sind bei einem Sauerstoffpartialdruck von ungefähr 27 mmHg, bei einem pH von 7,4 und einer Körpertemperatur von 37°C 50 % des Sauerstoffs, der an Hämoglobin gebunden war, freigesetzt. (Abb. 1)

P_{50}, das ist der Sauerstoffpartialdruck des gesamten Blutes bei 50 % Sauerstoffsättigung, würde also 27 mmHg betragen.

Wenn jedoch die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins zunimmt, muß der Sauerstoffpartialdruck tiefer sinken als normal, bevor das Hämoglobin entsprechend soviel Sauerstoff abgibt wie unter normalen Bedingungen, und das zeigt sich in einer Linksverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve.

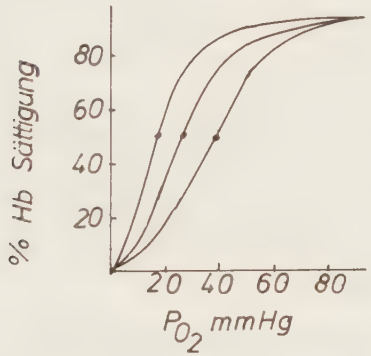


Abb. 1 Die Sauerstoffdissoziationskurve von normalem adulten Blut. (30)
P_{50}, der Sauerstoffpartialdruck bei 50 %iger Sauerstoffsättigung, ist annähernd 27 mmHg. Eine Abnahme der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins zeigt sich in einer Rechtsverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve. Der entgegengesetzte Effekt wird bei einer Linksverschiebung beobachtet.

Das Hämoglobin (Hb) ist ein Proteid, das aus einem Proteinanteil, dem Globin, und einem Farbstoffanteil, dem Häm, zusammengesetzt ist.
Häm wiederum besteht aus Eisen, das an Protoporphyrin komplexgebunden ist.

Das Hb besitzt eine charakteristische Quartärstruktur: 4 Peptidketten (2α - und 2β - Ketten), die je ein Häm als prosthetische Gruppe besitzen, lagern sich zu einer molekularen Funktionseinheit zusammen. Diese Anordnung von 4 Ketten bezeichnet man als Tetramer, wobei eine Kette ein Monomer darstellt.
Das Hb-Molekül vermag je Hämanteil ein Molekül O_2 zu binden und geht dabei in das $Hb(O_2)_4$ über.

Der sigmoidale Verlauf der O_2-Dissoziationskurve hat seinen Grund darin, daß die Bindung des O_2 an die Monomere kooperativ erfolgt. Das bedeutet: die Bindung eines Moleküls O_2 an das erste Monomer begünstigt die Bindung des nächsten an das zweite Monomer und so weiter.
Das gleiche gilt für die Dissoziation.
Dieser Effekt wird auch Häm-Häm-Interaktion genannt.(30)

In einer Arbeit von Tyuma et al. (1971) ist der Einfluß von 2,3-DPG auf die Sauerstoffbindung des Hämoglobins untersucht worden im Vergleich zu der Sauerstoffbindung des Hämoglobins ohne 2,3-DPG.

Die Ergebnisse sind in Tabelle I zusammengestellt. (46)

	K_1	K_2	K_3	K_4
ohne 2,3-DPG	0,079	0,295	0,75	4,35
in 2 • 10 mM 2,3-DPG	0,008	0,02	0,037	4,35

bei pH 7,4, 25°C, $1{,}5 \cdot 10^{-5}$M HbA

Tab. I Der kooperative Effekt bei der Bindung von 4 Mol O_2 an ein Mol Hb kommt in der stufenweisen Zunahme der Gleichgewichtskonstanten K zum Ausdruck, die in Gegenwart und auch in Abwesenheit von 2,3-DPG nachgewiesen wird.
Vergleicht man den Einfluß von 2,3-DPG auf die Gleichgewichtskonstanten, indem man den Quotienten
K^x = K ohne 2,3-DPG : K mit 2,3-DPG bildet:
$K_1^x = 9{,}9$; $K_2^x = 8{,}0$; $K_3^x = 37{,}5$; $K_4^x = 1$
so zeigt sich:
2,3-DPG hat keinen Einfluß auf die Bindung des 4. O_2-Moleküls an $Hb(O_2)_3$. Dies stimmt mit der Beobachtung

überein, daß $Hb(O_2)_4$ kein 2,3-DPG binden kann.
Die Bindung der ersten beiden Sauerstoffmoleküle an das Hb Tetramer wird etwa in gleichem Ausmaß beeinflußt, während die Wirkung des 2,3-DPG bei der Bindung des dritten Sauerstoffmoleküls etwa vier Mal so stark ist.
Übertragen auf physiologische Verhältnisse bedeutet dies:
1.) 2,3-DPG hat einen geringen Einfluß auf die Sauerstoffsättigung des Hb in der Lunge.
2.) 2,3-DPG entwickelt seinen größten fördernden Einfluß auf die Sauerstoffabgabe im Bereich von 60-65 % O_2-Sättigung, nämlich bei dem Schritt
$Hb(O_2)_3 \rightleftharpoons Hb(O_2)_2 + O_2$, der im Kapillargebiet erfolgt.

Benesch und Benesch nahmen an (6), daß " 2,3-DPG und verwandte organische Phosphate als die natürlich vorkommenden Regulatoren des Sauerstofftransports bei Hämoglobin in Funktion treten."
Andere Phosphate haben einen ähnlichen Effekt auf Hämoglobin, aber durch ihre relativ niedrige Konzentration spielen sie nur eine untergeordnete Rolle.

Frühere Strukturstudien von Perutz und Mitarbeitern führten zu der Annahme (7), daß das 2,3-DPG die Desoxy-Form des Hämoglobins durch Bindung in der zentralen Höhle des Hämoglobinmoleküls zwischen den β-Ketten stabilisiert; diese Höhle ist in der Oxy-Form des Hämoglobins zu klein, um die Ester aufzunehmen.
Studien von Bunn und Briel, De Verdier und Garby (11,15) an anormalen und chemisch modifizierten Hämoglobinen, die durch kristallographische Studien noch untermauert wurden, haben gezeigt,daß 2,3-DPG wie ein Stöpsel in den Eingang der zentralen Höhle zwischen den N-terminalen NH_2-Gruppen und der beiden β-Ketten rutscht; diese rücken dabei näher aneinander, indem sie mit dem 2,3-DPG in Wechselwirkung treten. Dies betrifft vor allem die NH_3-Gruppen von Valin $1\beta_1/\beta_2$ und His $2\beta_1/\beta_2$.

Ähnliche Annäherung ist bei den Imidazolgruppen des Histidins 143 von β_1 und β_2 und des Lysins β_{82} einer β-Kette zu sehen.

Wie erwartet, hängt die Bindung von 2,3-DPG und darauf fußend der Einfluß von 2,3-DPG auf die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins von verschiedenen Faktoren ab.

Es ist schon lange bekannt, daß, eine Rechtsverschiebung der O_2-Bindungskurve bei Abnahme des pH (Bohr-Effekt) zustandekommt. (9)
Dadurch wird erreicht, daß innerhalb einer Kreislaufzeit sich die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins so ändert, daß eine Sauerstoffabgabe im Kapillargebiet begünstigt ist.
Der Bohr-Effekt beruht darauf, daß bei Azidose im Hämoglobin vermehrt NH_3-Gruppen vorhanden sind, an die sich 2,3-DPG als Anion anlagert. Daraus resultiert eine Reduktion der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins bei Zunahme der H^+-Aktivität.

Auch bei Zunahme der Temperatur oder aber unter hypoxischen Bedingungen, wie z. B. bei Anämie oder bei Adaptation an große Höhe sehen wir eine Rechtsverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve.
Die Sauerstoffanlagerung an Hämoglobin ist ein exothermer Vorgang. Ebenso ist die Reaktion
Hb + 2,3-DPG $\rightleftharpoons$ Hb·2,3-DPG exotherm;
ΔF = - 6,81 Kcal/Mol bei 10°C.
Eine Temperaturerhöhung führt also zu einer Abnahme der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins. (8)

Bei einem pathologischen Säure-Basen-Status ändert sich die Sauerstoffaffinität kaum, was angesichts des Bohr-Effekts überrascht.

Bellingham et al. (47) konnten nämlich zeigen, daß die Sauerstoffaffinität sowohl bei chronischer Azidose als auch bei chronischer Alkalose in vivo innerhalb normaler Grenzen bleibt.
Dieser Befund kann durch die Beobachtung von Rapoport (35) erklärt werden, daß bei einer Azidose die 2,3-DPG-Konzentration abfällt.
Hierdurch wird der Bohr-Effekt bei längerfristigen Änderungen der H^+-Aktivität kompensiert.
Er behält jedoch seine Bedeutung während der einzelnen Kreislaufzeit.

Schon kurz nach der Entdeckung, daß 2,3-DPG die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins reduziert, zeigten Lenfant und Mitarbeiter (27) 1968, daß ein rapider Anstieg von 2,3-DPG im Erythrozyt, und damit verbunden eine Abnahme der Bindungsfähigkeit des Hämoglobins für O_2 bei Personen, die vom Meeresspiegel auf eine Höhe von 4500 m gebracht werden, zustandekommt.

Der Mechanismus, über den die Hypoxie den 2,3-DPG-Spiegel steigert, ist noch nicht völlig geklärt. Nach Burman (12) besteht die Möglichkeit, daß die Erhöhung des 2,3-DPG-Spiegels durch Anstieg des intrazellulären pH infolge Anstiegs des Desoxyhämoglobins zustandekommt. Wenn nämlich 2,3-DPG an Desoxyhämoglobin gebunden ist, ist die Konzentration an freiem 2,3-DPG erniedrigt und dadurch die Hemmung der 2,3-DPG-Mutase durch 2,3-DPG aufgehoben. So ist die weitere Produktion dieser Verbindung erleichtert.

Diese Bindung von 2,3-DPG an Desoxyhämoglobin scheint teilweise eine Erklärung für den höheren Spiegel an 2,3-DPG in Situationen von Hypoxämie zu sein, wie sie bei zyanotischen Herzvitien (31), bei chronischer Anämie (44) und bei Aufenthalt in großer Höhe (27) zu sehen sind, also alles Bedingungen, bei denen die Konzentration an Desoxyhämoglobin gestiegen ist..

Tabelle II (30)

A: Erhöhtes 2,3-DPG im Erythrozyt, erhöhtes P_{50}:

1. Adaptation an große Höhe
2. Hypoxämie in Verbindung mit chronischer Lungenerkrankung
3. Hypoxämie in Verbindung mit zyanotischen Herzvitien
4. Anämie
   Sekundär bei Eisenmangel
   Sekundär bei chronischen Nierenerkrankungen
   Verursacht durch Sichelzellen
   bei chronischen Lebererkrankungen
   bei Hyperthyreoidismus
   bei Pyruvatkinasemangel

B: Vermindertes 2,3-DPG im Erythrozyten, vermindertes P_{50}:

1. Septischer Schock
2. Schwere Azidose
3. In der Folge von massiven Bluttransfusionen mit Blutkonserven
4. Neonatales Atemnotsyndrom

Untersuchungen von P. Astrup et al. (2) haben unter anderem gezeigt, daß der 2,3-DPG-Stoffwechsel mit dem Stoffwechsel von anorganischem Phosphat in Beziehung steht, da Patienten mit erhöhten Konzentrationen an anorganischem Phosphat im Serum höhere 2,3-DPG-Konzentrationen aufweisen, als es vom Blut pH-Spiegel erwartet werden könnte.

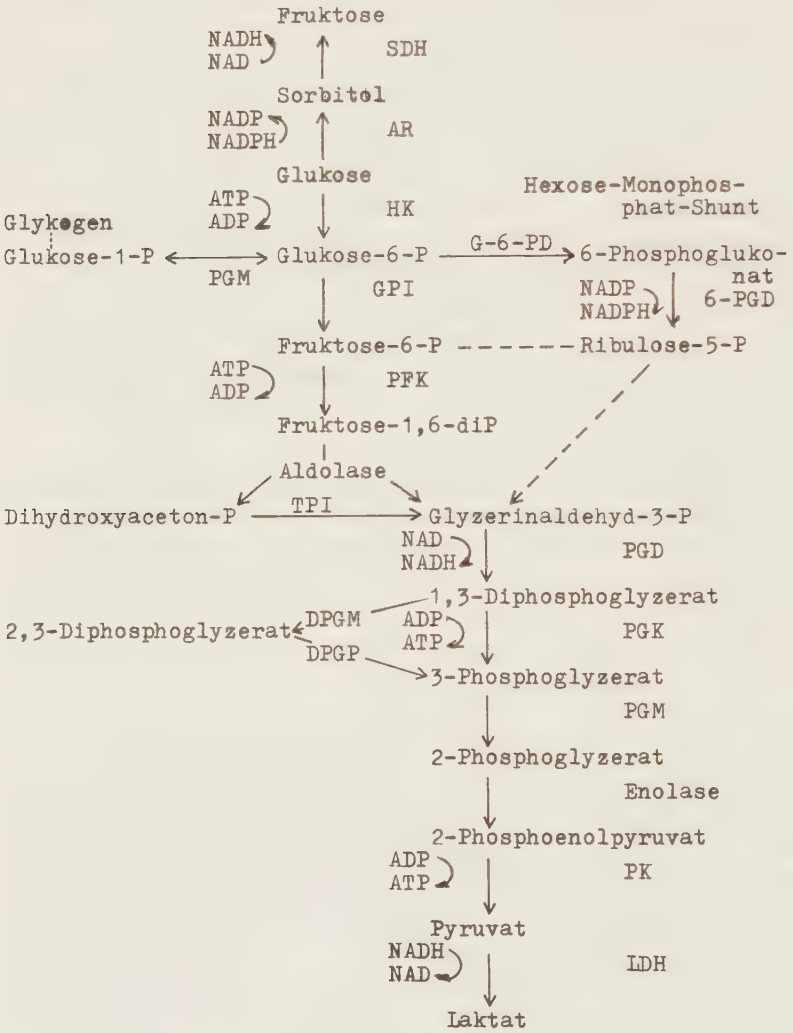
1.2 Die Regulation der Konzentration von 2,3-Diphosphoglyzerat im Erythrozyt.

Der Erythrozyt synthetisiert 2,3-DPG aus 1,3-DPG in Gegenwart des Enzyms 2,3-Diphosphoglyzeratmutase (Abb2,3) (30). Das 2,3-DPG kann dann zu 3-Phosphoglyzerat und anorganischem Phosphat unter Mitwirkung des Enzyms 2,3-DPG-Phosphatase hydrolysiert werden.
Die Umwandlung von Glyzerinaldehyd-3-phosphat zu 1,3-Diphosphoglyzerat wird kontrolliert vom Verhältnis von NADH/NAD innerhalb der Zelle. Hohe Konzentrationen von NADH hemmen diese Umwandlung.
Die Umwandlung von 1,3-DPG entweder zu 2,3-DPG oder 3-PGA wird von der Konzentration an ungebundenem 2,3-DPG innerhalb der Zelle, dem Spiegel an 3-PGA und dem Verhältnis von ADP/ATP gesteuert.
Hohe Konzentrationen an ADP erleichtern die Umwandlung von 1,3-DPG zu 3-PGA. Hohe Konzentrationen an 3-PGA scheinen die Phosphoglyzeratkinasereaktion zu hemmen und die Synthese von 1,3-DPG zu 2,3-DPG zu steuern. (30)

Studien von 2,3-DPG-Mutase haben gezeigt, daß sie schon von sehr niedrigen Konzentrationen an 2,3-DPG (K_i = 0,85 mM) gehemmt wird. (37)

Die Glykolyse ist pH-abhängig und wird bei Azidose gehemmt, was auf Grund der verringerten Glukoseverwertung und anhand der Laktatproduktion beurteilt werden kann. Diese Vorgänge führen zu einer verminderten 2,3-DPG-Konzentration (Guest und Rapoport, 20).
Andererseits stimuliert die Alkalose die Glykolyse, und der 2,3-DPG-Spiegel steigt an.
Diese pH-Wirkungen können möglicherweise bei der Umwandlung von Fruktose-6-phosphat zu Fruktose-1,6-diphosphat mittels Phosphofruktokinase zustandekommen, ein früher Schritt in der Glykolyse, der pH-abhängig ist.
(Rapoport et al., 36)

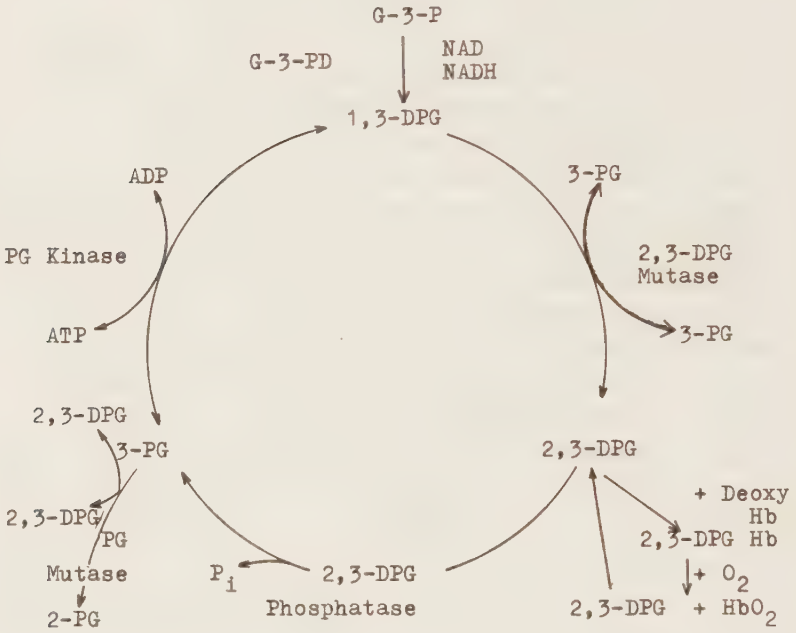
Abb.2 Der Stoffwechsel des menschlichen Erythrozyten(30)



Abk.:

HK	= Hexokinase
GPI	= Phosphoglukoisomerase
PFK	= Phosphofruktokinase
TPI	= Triosephosphatisomerase
PGD	= Phosphoglyzerinaldehyd-dehydrogenase
PGK	= Phosphoglyzerinsäure-kinase
PGM	= Phosphoglyzeromutase
DPGM	= Diphosphoglyzeratmutase
DPGP	= Diphosphoglyzeratphosphatase
PK	= Pyruvatkinase
LDH	= Laktatdehydrogenase
G-6-PD	= Glukose-6-phosphatdehydrogenase
6-PGD	= 6-Phosphoglukoniddehydrogenase
SDH	= Sorbitoldehydrogenase
AR	= Aldosereduktase

Abb.3 Der 2,3-DPG-Zyklus im menschlichen Erythrozyten(30)



Abk.:

G-3-P	= Glyzerinaldehyd-3-phosphat
G-3-PD	= Glyzerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase
3-PG	= 3-Phosphoglyzerat
P_i	= anorganisches Phosphat
PG-Kinase	= Phosphoglyzeratkinase
PG-Mutase	= Phosphoglyzeratmutase

1.3. Zyanotische Herzfehler und 2,3-DPG

Es besteht Einigkeit darüber, daß Erwachsene und Kinder mit einem Rechts-Links-Shunt und Hypoxämie Sauerstoffdissoziationskurven haben, die auf Grund einer Erhöhung des 2,3-DPG-Spiegels nach rechts verschoben sind.
Die Rechtsverschiebung erreicht durchschnittlich 4 mmHg für P_{50}. Das entspricht einer Zunahme an 2,3-DPG um ungefähr 40%.

Daten, aus denen Schlußfolgerungen über den Mechanismus der Änderung von 2,3-DPG und Standard P_{50} in dieser Gruppe von Erkrankungen gezogen werden können, sind relativ begrenzt. Ein verminderter Sauerstoffgehalt des Blutes mit daraus resultierender Anoxie des Gewebes ist eine der Hauptursachen für die verminderte Leistungsfähigkeit bei zyanotischen kongenitalen Herzvitien.(39)
Eine Zunahme des pulmonalen Blutflußes auf Grund von chirurgischen Eingriffen in ausgewählten Fällen läßt zunächst den Sauerstoffgehalt des Blutes ansteigen, obwohl die Sauerstofftransportkapazität allmählich abnimmt.
Die andere mögliche Methode, den Sauerstoffgehalt zu erhöhen, ist durch Zunahme der Sauerstofftransportkapazität des Blutes gegeben.
Der Organismus versucht dies physiologisch bei zyanotischen kongenitalen Herzfehlern durch Schaffung einer Polyglobulie und eines erhöhten Hämoglobinspiegels zu erreichen.
Es kann sich jedoch auch - leicht verständlich bei der zum Eisenmangel neigenden Situation in den ersten Lebensjahren - sehr häufig ein Eisenmangel entwickeln.

Dieser Eisenmangel wird verhindern, daß sich die notwendige Hämoglobinerhöhung ausbildet.
Die durch Rechts-Links-Shunt hervorgerufene Hypoxie kann eine Polyglobulie induzieren jedoch auf Grund des Eisenmangels mit mikrozytären und hypochromen Erythrozyten.

Es stellt sich für uns nun die Frage, ob es sinnvoll ist, bei Kindern mit zyanotischen Herzvitien eine Eisenmedikation vorzunehmen, um damit eine eventuell bestehende Mikrozytose und Hypochromie zu beseitigen, die Sauerstoffkapazität zu erhöhen, und damit auch die Sauerstoffabgabe vom Blut an das Gewebe zu verbessern, oder ob ein zu hoher Anstieg des HK eine Eisenmedikation verbietet.

2. Patientengut

Untersucht wurde ein Patientengut von 13 Kindern mit zyanotischen Herzvitien, die teilweise schon operiert worden sind, wobei bei 9 Kindern vor und nach Eisentherapie 2,3-DPG-Messungen vorgenommen wurden.
Bei 4 Kindern konnte nur vor Beginn der Eisenmedikation 2,3-DPG-Messungen durchgeführt werden, da der 2. Untersuchungstermin nicht wahrgenommen wurde.

Die Kinder, bei denen eine Eisentherapie durchgeführt wurde, erhielten 6 Wochen lang Eisen peroral und zwar in einer Dosierung von 1,5 mg/kg/die.

Bei den Patienten handelte es sich im einzelnen:

1. M.F. : 4 6/12 Jahre; Fallot'Tetralogie, Z.n. Waterston-Cooley-Anastomose (Op. 1973)

2. N.B. : 5 1/12 Jahre; Fallot'Tetralogie

3. A.H. : 13 6/12 Jahre; Morbus Down, inkompletter AV-Kanal, Pulmonalstenose, bidirektionaler Shunt und offenes Foramen ovale.

4. A.T. : 4 6/12 Jahre; Fallot'Tetralogie, Fehlmündung der rechten Lungenvene in die Vena cava inferior, Vorhofseptumdefekt, Z.n. Waterston-Cooley-Anastomose (Op. 1972)

5. D.D. : 5 9/12 Jahre; Dextroversio cordis bei Situs solitus mit korrigierter L-Transposition der großen Gefäße, VSD, ASD, Bandage der Arteria pulmonalis, Fehlmündung einer linken oberen Hohlvene in den linken Vorhof.

6. W.Ch. : 1 1/12 Jahre; Transposition der großen Gefäße, Infundibulumstenose des linken Ventrikels; Atrioseptostomie.

7. A.L. : 5 3/12 Jahre; D-Transposition der großen Gefäße, VSD; Z.n. Blalock-Hanlon und nach Bandage der Arteria pulmonalis. (Op. 1971)

8. A.Ta. : 3 10/12 Jahre; Fallot'Tetralogie

9. Ch.H. : 5 6/12 Jahre; Fallot'Tetralogie

10.S.G. : 4 6/12 Jahre; Arteriovenöses Aneurysma im Bereich des linken Lungenunterlappens.

11.S.H. : 6 7/12 Jahre; Fallot'Tetralogie; Z.n. Waterston-Cooley-Anastomose. (Op. 1969)

12.A.J. : 6 9/12 Jahre; Fallot'Tetralogie

13.S.R. : 3/12 Jahre; Totale Fehlmündung der Lungenvenen in die Vena brachiocephalica.

3. MATERIAL UND METHODE

3.1 Material

Für die Versuche wurden folgende Reagenzien verwandt:

I. Tris (hydroxymethyl)-aminomethan p.a.
Merck Art. 8382 500g

II. Magnesiumchlorid $MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$ p.a.
Merck Art. 5833 500g

III. Phosphoenolpyruvat, kristallines Monokaliumsalz
Boehringer Mannheim Bestellnr. 15179 500mg

IV. Glyzerat 2,3-Diphosphat
kristallines Pentacyclohexylamoniumsalz
$C_3H_3O_{10}P_2 \cdot (C_6H_{14}N_5) \cdot 4\ H_2O$
Boehringer Mannheim Bestellnr. 15178 SGAQ 100mg

V. Enolase Kristallsuspension (Kaninchenmuskel)
Boehringer Mannheim Bestellnr. 15327 10mg/ml

VI. Phosphoglyzeratmutase Kristallsuspension
(Kaninchenmuskel)
Boehringer Mannheim Bestellnr. 15432 25mg/5ml

VII. 1 L 1n KOH p.a.

VIII. Perchlorsäure etwa 70 % p.a.
Merck Art. 519 500 ml

IX. Salzsäure min. 32 % p.a.
Merck Art. 319 1 l

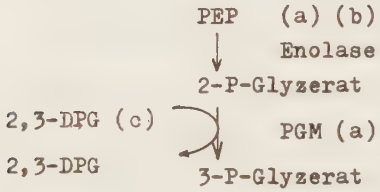
Es wurde ein Spektralphotometer PMQ II der Firma Carl Zeiss mit temperierbarem Küvettenhalter zur Messung der Extinktion verwandt. Die dabei verwandten Quarzküvetten hatten eine Schichtdicke von 10 mm.

3.2. Methode

Kinetischer Test, angegeben von J. Krimsky (26), modifiziert von H. Moeller u. a. (24)

Prinzip:

Die Reaktionsgeschwindigkeit der Phosphoglyzeratmutasereaktion ist abhängig von der 2,3-DPG-Konzentration, da 2,3-DPG als Katalysator dient. Die Reaktion wird an die Enolasereaktion gekoppelt. Sie liefert das Substrat für die PGM-Reaktion und dient gleichzeitig als Indikatorreaktion, denn gemessen wird die Abnahme der vorgelegten PEP-Konzentration.



(a) wird vorgelegt; (b) Abnahme der Konzentration wird gemessen
(c) 2,3-DPG-Konzentration ist für die Reaktionsgeschwindigkeit des gesamten gekoppelten Systems geschwindigkeitsbestimmend.

Verwandte Lösungen:

Lösung I: 2,0 M Tris-HCl (= 2,0 M Tris(hydroxymethyl) aminomethan-Lösung, das mit HCl auf einen pH von 7,4 eingestellt wurde.)

Puffer I: 44 mM Tris, 10 mM $MgCl_2$, pH 7,4

Puffer II: 42 mM Tris-HCl
9,42 mM $MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$
0,543 mM Phosphoenolpyruvat (PEP), pH 7,4

Puffer III : 45 mM Tris • HCl, pH 7,4

Die Lösungen wurden in demineralisiertem Wasser angesetzt.

Durchführung der Versuche:

0,1 ml Kapillarblut des Patienten werden durch Zugabe von 0,9 ml destilliertem Wasser hämolysiert. Nach 30 Minuten wird die Probe durch Zusetzen von 1 ml 4 %iger Perchlorsäure enteiweißt.
Nach weiteren 15 Min. wird zur Neutralisierung 8 ml 0,083 N KOH zugegeben. Diese Probe wird nun bei 4°C 24 Stunden lang aufbewahrt, bis $KClO_4$ weitgehend ausgefallen ist. In diesem Stadium werden die Proben bis zur weiteren Aufarbeitung eingefroren aufbewahrt.
Danach wird zentrifugiert, 0,4 ml des Überstandes abpipettiert und mit Puffer I auf 100 ml aufgefüllt. Diese Probe stellt die Ausgangslösung für die Meßreihe dar.

3.3 Meßvorgang:

Die 2,3-DPG-Konzentration selbst kann nicht gemessen werden. Es besteht jedoch eine Korrelation zwischen PEP-Verbrauch und 2,3-DPG-Konzentration (E_{240}).

Im Endansatz sind enthalten:

Reagenz	Menge	Konzentration
Tris • HCl, pH 7,4	5,33 mg	44 mM
$MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$	0,955 mg	4,7 mM
PEP	1,92 mg	9,35 mM
Enolase	10 ug	
PGM	10 ug	

Es werden nun 0,01 ml Enolase-Lösung, 0,01 ml PGM-Lösung und 0,5 ml Puffer II bei 25°C 5 Minuten lang inkubiert.
Durch Zusatz von 0,5 ml 2,3-DPG-Lösung in entsprechender Verdünnung mit Puffer III von 0,02 -0,09 uM 2,3-DPG wird die Reaktion gestartet.
Die Abnahme der Menge von PEP in der Zeiteinheit ist der Konzentration an 2,3-DPG proportional.
Es wird 2', 6' und 10 Minuten nach dem Start der Reaktion die Extinktion der Probe bei 240 nm gemessen. Die Extinktionsdifferenz 2' - 6' und 2' - 10' sind ein Maß für die Reaktionsgeschwindigkeit und damit für die 2,3-DPG-Konzentration.
Es ergeben sich daraus zwei Eichkurven, aus denen die entsprechende Konzentration an 2,3-DPG in dem mitgemessenen Blut ermittelt werden kann.

3.4 Wiederfindungsrate:

Bei einer 2,5 mM 2,3-DPG-Konzentration ergibt sich bei einem angenommenen HK von 50 % eine Konzentration von 5 mM/l Ery.
0,1 ml einer 2,5 mM 2,3-DPG-Lösung wurden in einer Meßreihe wie Blut behandelt.
Dabei ergab sich ein gemessener Wert von c = 0,054uM

berechnet nach der Formel

$$c\ (uM) = c \cdot \frac{5000}{HK}\ (mM/l\ E)$$ ergab sich

eine Konzentration von c = 5,4 mM/l Ery.

3.5 Streuung:

Die relative Standardabweichung betrug 10,2 %.

3.6 Normwerte von 2,3-DPG:

Nach Untersuchungen von H.Moeller et al. (24) liegt die 2,3-DPG-Konzentration bei Kindern im Alter zwischen 2 und 9 Jahren ohne zyanotische Herzvitien bei 4,9 ± 1,38 mM/l E.

Bei F.A. Oski und Mitarbeiter (31) liegt der 2,3-DPG-Spiegel bei normalen Fällen bei 4,082 ± 0,515 mM/l E.

4.1. Ergebnisse:

Bei 13 Patienten mit zyanotischen Herzvitien wurden Hb und die Anzahl der Erythrozyten im peripheren Blut, HK im Kapillarblut, die venöse O_2-Sättigung im rechten Vorhof und die arterielle O_2-Sättigung in der Aorta ascendens bestimmt.
Die Bestimmung der 2,3-DPG-Konzentration im Erythrozyten wurde mit der oben angegebenen Methode vorgenommen. Anläßlich einer speziellen Herzdiagnostik wurde die venöse und arterielle O_2-Sättigung bestimmt.
Da sich nur 9 Patienten zu einem zweiten Termin wieder einfanden, konnten nur bei diesen die Messungen wiederholt werden.

Die Patienten waren zwischen 3/12 und 13 6/12 Jahre alt.

Die Meßergebnisse sind in den Tabellen III und IV zusammengestellt.

Sämtliche Kinder zeigten einen erhöhten Hb-Wert.

1. Messung:

Hb	: Durchschnitt 17,3 g% (Normwerte: 10,5 - 12 g%) Minimum-Maximum: 12,3 g% - 22,4 g%
HK	: Durchschnitt:52 % (37 -39 %) Min.-Max.: 41 % - 71 %
Erythrozyten	: Durchschnitt: 6 Mio./mm^3 (4,7 -4,8) Min.-Max.: 4,5 Mio./mm^3 - 7,1 Mio/mm^3
HbE	: Durchschnitt: 29,056 pg (27-32pg) Min.-Max.: 22,2pg - 32,8 pg

MCV : Durchschnitt: 85,54 um^3
(Norm 80 - 94 um^3)
Min.-Max.: 75,75 um^3 - 95,3um^3

O_2-Sättigung arteriell : Durchschnitt: 80,04 %
(93 - 96 %)
Min.-Max.: 48 % - 98 %

O_2-Sättigung venös : Durchschnitt: 58,83 %
(60 -75 %)
Min.-Max.: 31,4 % - 75 %

2,3-DPG : Durchschnitt: 6,355 mM/l Ery
(4,9 $\pm$ 1,38 mM/l Ery)
Min.-Max.: 4,718 mM/l Ery -
8,489 mM/l Ery)

2. Messung:

nach sechswöchiger Eisengabe in einer Dosierung von 1,5 mg/kg KG/die.

HK : Durchschnitt: 55,55 % (Norm 37 % - 39 %)
Min.-Max.: 44 % - 71 %

2,3-DPG : Durchschnitt: 6,233 mM/l Ery
Min.-Max.: 4,461 mM/l Ery - 8,369 mM/l Ery

Anmerkung: Auf Grund der niedrigen Fallzahl ist es nicht feststellbar, ob die untersuchte Stichprobe normal verteilt ist.

Tab. III Werte vor Eisenmedikation (1.Messung)

Nr.	Init.	Alter	Hb g%	HK %	2,3-DPG mM/l Ery	O_2-Sättg. venös	O_2-Sättg. art.	O_2-Diff. art.-ven.	Ery Mio./mm^3	HbE pg	MCV um^3
1	M.F.	4 6/12	15	41	8,475	65 %	86,5 %	21,5	4,8	31,25	85,4
2	N.B.	5 1/12	13,7	44	7,102	75	95	20			
3	A.H.	13 6/12	21	61	5,840	74,5	88	13,5	6,4	32,8	95,3
4	A.T.	4 1/12	15,4	48	8,489	50	77	27	5,7	27,01	84,2
5	D.D.	5 9/12	22,4	57	5,997	65	87	22	7,0	32	81,4
6	W.Ch.	1 1/12	15,8	55	5,363	31,4	48	16,6	7,1	22,2	77,46
7	A.L.	5 3/12	20,7	71	4,718	58	69	11			
8	A.Ta.	3 10/12	19,1	54	5,231	70	74	4	6,3	30,8	85,7
9	Ch.H.	5 6/12	20,9	59	5,0	58	75	17	6,5	32,1	90,7
10	S.G.	4 6/12	15,8	50	4,9		89,5				
11	S.H.	6 7/12	18,7	50	5,433	65,3	98,5	33,2	6,6	28,3	75,75
12	A.J.	6 9/12	13,7	44	8,011				5,1	26,8	86,2
13	S.R.	3/12	12,3	42	8,065	35	73	38	4,5	27,3	93,3

Tab. IV.

Nr.:	Initialen	HK %	2,3-DPG (mM/l Ery)
1	M.F.	46	8,369
2	N.B.	44	6,648
3	A.H.	56	6,551
4	A.T.	57	8,070
5	D.D.	53	5,448
6	W.Ch.	54	6,064
7	A.L.	71	5,096
8	A.Ta.	54	5,393
9	Ch.H.	65	4,461

HK und 2,3-DPG-Werte nach sechswöchiger Eisenmedikation. Bei keinem der Kinder wurde zwischenzeitlich eine Korrektur- oder Palliativoperation durchgeführt.

Diagnosen:

Nr. 1 M.F. : Fallot'Tetralogie mit Waterston-Cooley-Anastomose (Op. 1973)

Nr. 2 N.B. : Fallot'Tetralogie

Nr. 3 A.H. : Morbus Down; inkompletter AV-Kanal, Pulmonalstenose, offenes Foramen ovale; bidirektionaler Shunt.

Nr. 4 A.T. : Fallot'Tetralogie; Fehlmündung der rechten Lungenvenen in die untere Hohlvene, arterielle Fehlversorgung des rechten Lungenunterlappens aus Truncus coeliacus; Z.n. Waterston-Cooley-Anastomose (Op. 1972); Vorhofseptumdefekt.

Nr. 5 D.D. : Dextroversio cordis; korrigierte L-Transposition der großen Gefäße, ASD, VSD, Fehlmündung einer linken oberen Hohlvene in den linken Vorhof.

Nr. 6 W.Ch. : Transposition der großen Gefäße; Atrioseptostomie (1974), Infundibulumstenose des linken Ventrikels.

Nr. 7 A.L. : D-Transposition der großen Gefäße; über VSD reitende Arteria pulmonalis. Z.n. Blalock-Hanlon und Bandage der Art. pulm. (Op. 1971)

Nr. 8 A.Ta. : Fallot'Tetralogie mit valvulärer und infundibulärer Pulmonalstenose, Dextroposition der Aorta und hochsitzendem VSD.

Nr. 9 Ch.H. : Fallot'Tetralogie

Nr. 10 S.G. : Arteriovenöses Aneurysma im Bereich des linken Lungenunterlappens;

Nr. 11 S.H. : Fallot'Tetralogie; Z.n. Waterston-Cooley-Anastomose.(Op. 1969)

Nr. 12 A.J. : Fallot'Tetralogie

Nr. 13 S.R. : Totale Fehlmündung der Lungenvenen in die Vena brachiocephalica.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte anhand der Regression zweiter Art (siehe Anhang). Die auf Grund der Statistik gewonnenen Daten lassen folgenden Schluß zu:
Es besteht eine direkte Abhängigkeit zwischen Hb und 2,3-DPG und zwischen HK und 2,3-DPG.
Zwischen arterieller O_2-Sättigung und 2,3-DPG, zwischen venöser O_2-Sättigung und 2,3-DPG und zwischen arterio-venöser Sauerstoffdifferenz und 2,3-DPG läßt sich mit dieser statistischen Methode keine eindeutige Korrelation nachweisen.

Stellt man die Hämatokritwerte der 1. denen der 2. Messung gegenüber (Abb. 4), so findet man auch hier keine gravierende Änderung.
Auch die statistische Überprüfung mit dem Paarvergleich nach dem Student-t-Test für die Hämatokritwerte der 1. und 2. Messung ergab keine signifikante Änderung:

t = - 0,717
F = 8
p 0,2

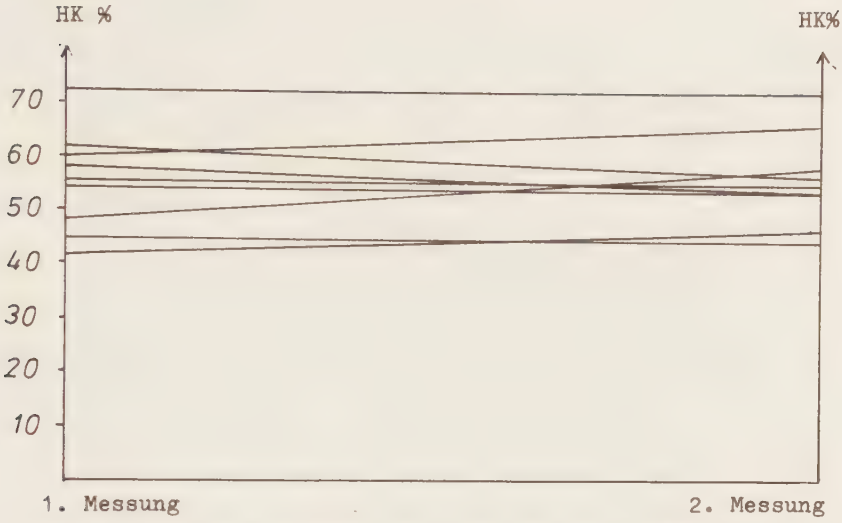
Nach dem Paarvergleich mit dem Student-t-Test für 2,3-DPG vor und nach Eisengabe ergibt sich:

t = 0,062
F = 8
p = 0,5

Statistisch kann keine signifikante Änderung nachgewiesen werden.

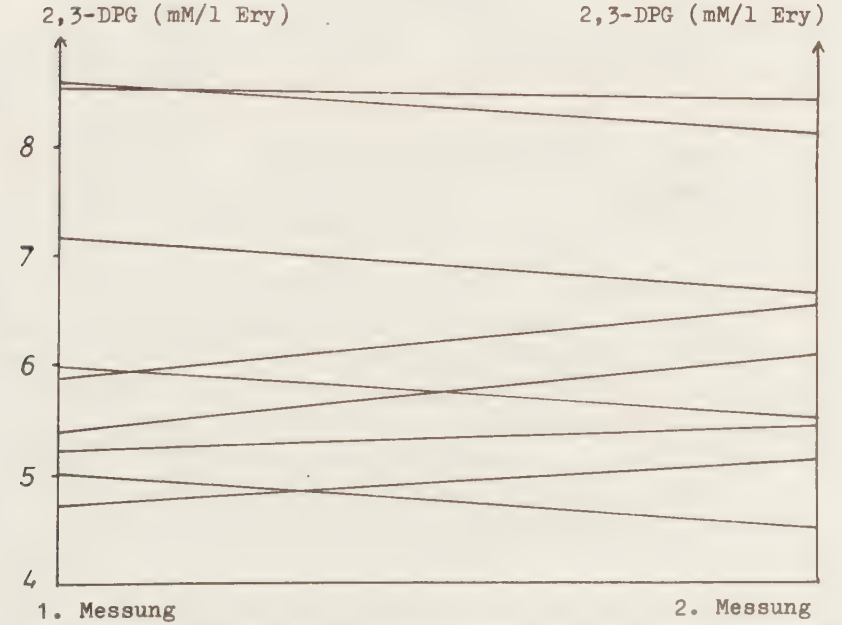
Stellt man nun die HK-Werte den 2,3-DPG-Konzentrationen der 1. Messung, und die bei der 2. Messung ermittelten HK-Werte den bei dieser Messung gefundenen 2,3-DPG-Konzentrationen gegenüber (Abb. 6 u. 7), so läßt sich feststellen, daß bei hohen HK-Werten (>50 %) niedrige (<6mM/l Ery) und bei niedrigen HK-Werten (<50 %) höhere 2,3-DPG-Konzentrationen (>6mM/l Ery) resultieren.

Abb. 4



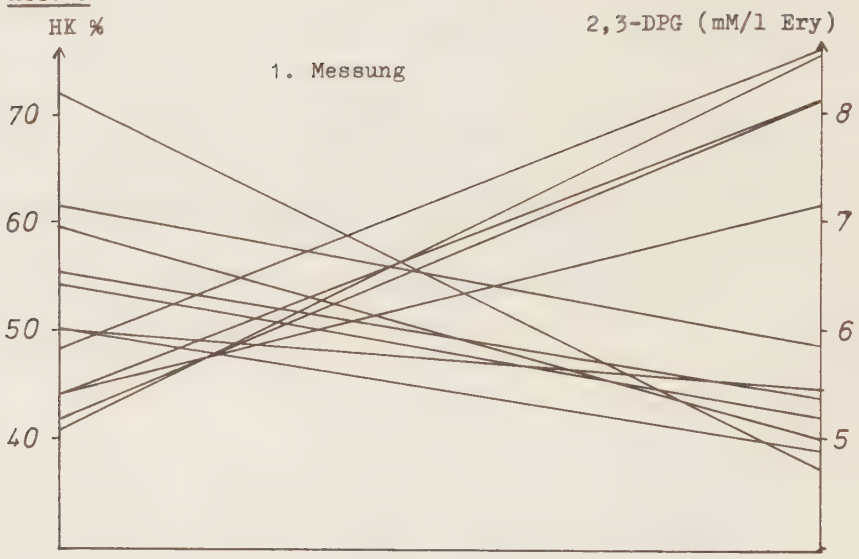
Darstellung der HK-Werte vor und nach Eisenmedikation

Abb. 5



Gegenüberstellung der 2,3-DPG-Werte vor und nach Eisengabe

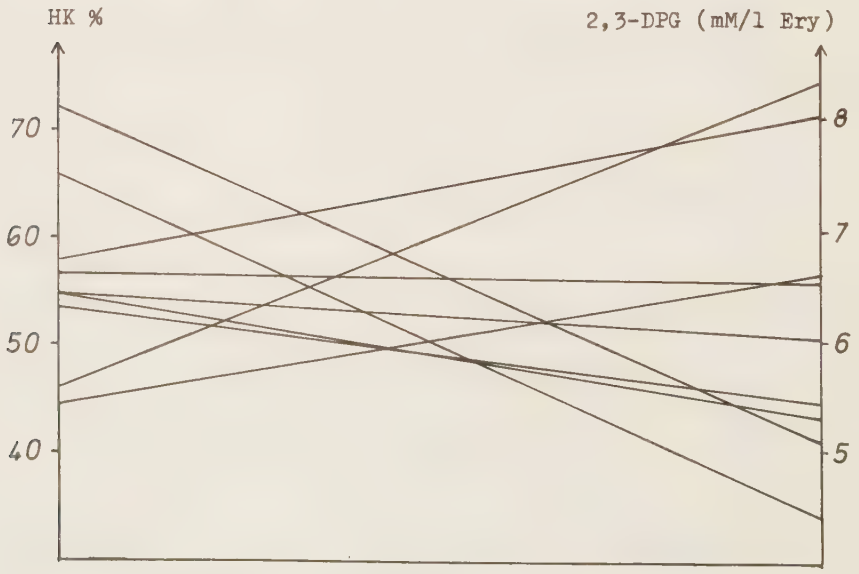
Abb. 6



Beziehung zwischen HK und 2,3-DPG vor Eisenmedikation

Abb. 7

2. Messung



Beziehung zwischen HK und 2,3-DPG nach Eisenmedikation

5. DISKUSSION:

M.Rudolph und Mitarbeiter (39) untersuchten 7 Kinder mit zyanotischen kongenitalen Herzvitien und Polyglobulie auf die Reaktion nach Eisengabe. Es wurde eine Tagesdosis von 150 mg Eisensulfat verabreicht.
Bei diesen Untersuchungen wurde venöses Blut mit Oxalat ungerinnbar gemacht. Die Erythrozytenzahl wurde mit US-Bureau of Standard Pipetten, Hb mit dem Evelyncolorimeter und der Hämatokrit mit der Wintrobe-Methode bestimmt. Die Viskositätsmessung wurde in dem 33-sec. Ostwaldrohr vorgenommen.

Die Kinder zeigten eine Polyglobulie, aber Hämoglobinspiegel, die im oder unter dem Durchschnitt ihres Alters lagen. Dies ließ vermuten, daß die Hypoxie, obwohl sie schwer genug war, um eine Polyglobulie zu stimulieren, aus irgendeinem Grund das Hämoglobin und die Sauerstoffkapazität nicht ansteigen ließ.
Obwohl der Hämoglobinspiegel isoliert betrachtet, normal war, war er doch im Vergleich zu den Erythrozytenzahlen niedrig. Bei den zyanotischen kongenitalen Herzvitien besteht ein persistierender anoxischer Stimulus auf das Knochenmark von mehr oder weniger starker Ausprägung. Das Knochenmark reagiert darauf, und es entwickelt sich eine Polyglobulie.
Bei den meisten Kindern bestätigte sich, daß die Hämoglobinzunahme auf der einen Seite mit dem Anstieg an Erythrozyten parallel ging.
Auf der anderen Seite gab es nun die Kinder, die wohl eine manifeste Polyglobulie, aber keinen entsprechenden Anstieg des Hämoglobins zeigten.
Diese Voraussetzung der "relativen Anämie" stellt das Modell einer Eisenmangelanämie mit Mikrozytose

und Hypochromie dar. Schon H.B. Taussig (42) war die Anämie bei zyanotischen Patienten bekannt, und sie verwandte wiederholt kleine Bluttransfusionen zur Behandlung.
Bei den Kindern kommt es nach Eisengabe zu einem schnellen Anstieg des HK -und Hämoglobinspiegels, mit einem weniger signifikanten Anstieg der Erythrozytenzahl, sodaß Zellen mit normaler Größe und Hb-Gehalt entstehen. (39)
Die Eisengabe kann jedoch auch zu einer Zunahme der Polyglobulie führen, und damit durch Erhöhung der Blutviskosität die Patienten in eine lebensbedrohliche Situation bringen, nämlich durch Thrombosen und Embolien in erster Linie des Gehirns.(43)

Die auslösende Ursache für die Polyglobulie ist die verminderte O_2-Sättigung. Diese findet sich bei angeborenen Herzfehlern mit Rechts→Links-Shunt und/oder verminderter Lungendurchblutung. Nach Taussig (42) entwickelt sich eine Polyglobulie, wenn eine arterielle Sauerstoffsättigung unter 66% über längere Zeit besteht. Die Verminderung dieser arteriellen O_2-Sättigung korreliert mit der Erhöhung der Erythrozyten; mit der Hämoglobinkonzentration nur unter der Voraussetzung, daß genügend Eisen zur Bildung von Hämoglobin zur Verfügung steht. Diese Erhöhung der Hämoglobinkonzentration vermindert den O_2-Mangel. Der erhöhte Hämoglobinbestand führt zu einem erhöhten Hämoglobinumsatz.(34) Damit verbunden ist eine Erhöhung des Eisenumsatzes, die auch in erhöhten Serumeisenwerten zum Ausdruck kommt.(49)

Schon im Neugeborenenalter besteht diese Polyglobulie. Die Entwicklung der Polyglobulie verläuft sehr gesichert mit einer Ausnahme: Eisenmangel kann die Entstehung einer Polyglobulie verhindern.

Eine relative Anämie bei kompensatorischer Polyglobulie entsteht daher dann, wenn die notwendige Hämoglobinerhöhung durch Eisenmangel nicht zur Ausbildung kommen kann. In den ersten Lebensjahren mit ihrer physiologischen Eisenmangelbereitschaft wird dieser erhöhte Eisenbedarf durch Nahrungseisen kaum gedeckt werden können. (48)

Der Gesamteisenbestand des menschlichen Organismus beträgt abgerundet etwa 50 mg Eisen/kg Körpergewicht. Dieses Eisen bewegt sich zwischen Erythrozyten, Gewebeeisen und Eisenspeicher (Ferritin, Hämosiderin) über das Plasmaeisen (Transferrin). Da nur eine passive Ausscheidung mit Zellen, Haaren u. ä. besteht, ist der Kreislauf weitgehend geschlossen, und nur diese passiv verlorene Menge muß durch Absorption ergänzt werden.
Dieses Schema des geschlossenen Kreislaufes gilt aber nur dann, wenn der Gesamteisenbestand konstant ist und nicht durch Wachstum fortlaufend erhöht wird.
Eines der wesentlichen Kennzeichen des Eisenstoffwechsels des wachsenden Organismus ist eben dieser fortlaufende Mehrbedarf, der dem Wachstum mit Zunahme des Gesamtgewichts entspricht. (48)

Wie schon erwähnt, haben M. Rudolph et al. bei einer Reihe von Kindern mit zyanotischen Herzfehlern gefunden, daß diese Kinder eine manifeste Polyglobulie ohne begleitenden Anstieg an Hämoglobin zeigten.
Diese Kinder boten das Bild einer relativen Eisenmangelanämie mit Mikrozytose und Hypochromie.
Auch bei 5 von uns untersuchten Kindern zeigte sich eine Hypochromie, eine Mikrozytose konnte jedoch nicht festgestellt werden.
Diese Hypochromie könnte auch die Ursache für die bei hohen Hämatokritwerten (>50%) gefundenen relativ niedrigen 2,3-DPG-Konzentrationen (zwischen 5 und 6 mM/l Ery) sein. Warum nach Eisenmedikation

keine deutliche Änderung der Situation eingetreten ist , ist unklar.
Vielleicht ist es notwendig, die Eisengabe über einen längeren Zeitraum als 6 Wochen fortzuführen.

Bei den hier untersuchten Kinder fand sich eine Erhöhung der 2,3-DPG-Konzentration im Erythrozyt. (Durchschnitt bei dieser Untersuchung ca. 6,3 mM/l Ery).
Bei 5 von Oski et al. (31) untersuchten Patienten mit kongenitalen Herzvitien war der Spiegel höher als bei den Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen, und zwar lagen die Werte im Mittel zwischen 7,036 $\pm$ 1,696 mM/l Ery. Eine direkte Relation zwischen der Sauerstoffsättigung und dem 2,3-DPG-Spiegel konnte nicht beobachtet werden,
Bei dem von uns untersuchten Krankengut ließ sich keine signifikante Änderung des 2,3-DPG-Spiegels vor oder nach Eisentherapie feststellen.

Versmold et al. (47) berichten, daß sich bei älteren Kindern mit zyanotischen Herzvitien eine adaptive Zunahme des 2,3-DPG-Spiegels, der O_2-Kapazität und des P_{50} zeigt. Sie nehmen an, daß die 2,3-DPG-Zunahme bei Hypoxie kontrolliert wird durch eine Zunahme des intraerythrozytären pH, der von der niedrigen O_2-Sättigung abhängt.
In den ersten Lebenswochen ist 2,3-DPG bei Kindern mit zyanotischen Herzvitien nicht erhöht, da der niedrige Plasma-pH-Spiegel, der häufig bei diesen Säuglingen gefunden wird, den Effekt der Hypoxie auf den erythrozytären pH ausgleicht. (47)

Die hier untersuchten Kinder zeigten eine mäßige bis deutliche Erhöhung des Hämatokrits jedoch ohne Anstieg nach Eisengabe.

Bei der Eisenmedikation ist zu beachten, daß es bei Hämatokritwerten von über 65-70% zu einem raschen Viskositätsanstieg kommt. Durch die verlangsamte Strömung können bei Überschreiten dieser Werte vor allem thrombotische Komplikationen auftreten. (18, 21, 22, 25, 39, 41, 43)
Die optimalen Hämatokritwerte scheinen sich noch nicht genau festlegen zu lassen.
Denn einerseits gibt G. Weippl für sie Werte zwischen 55% und 75% an, andererseits sieht er als kritischen Grenzwert den Bereich zwischen 70% und 75% an. (48) Es ist deshalb wünschenswert, den HK unter 70% zu halten. (39) Der HK-Spiegel kann jedoch trotz Absetzen der Eisengabe bei diesen Werten weiterhin steigen, weil wahrscheinlich Eisen aus den Eisenspeichern noch verfügbar ist.
Es ist deswegen erstrebenswert, die Eisengabe zu unterbrechen, wenn HK-Spiegel über 60% erreicht werden. Bei einem Anstieg des HK über 75% treten dann nämlich die Symptome wie Dyspnoe, Zyanose, Anoxie, Anorexie usw. auf, wahrscheinlich zurückzuführen auf die Zunahme der Blutviskosität. (39)

Das Bestehen eines normalen Hämoglobinspiegels schließt eine relative Anämie nicht aus.
Diese Kinder reagieren gut auf Eisentherapie.
Bei einer von A. Rudolph et al. untersuchten Gruppe, bei der eine Eisenmedikation über einen Zeitraum von 2-8 Monaten durchgeführt worden war, zeigte sich dies in einer Zunahme des Hämatokrits. Diese Kinder entwickelten normale Erythrozyten in großer Zahl.
Klinische Besserung ging mit dem Anstieg des Hämatokrits parallel. (39)

Bei der hier durchgeführten Untersuchung schwankte das Hämoglobin zwischen 12,3 g% und 22,4 g% mit einem Durchschnitt von 17,3 g%. Der Hämatokrit lag zwischen 41% und 71% bei einem Durchschnitt von 52%.

Oski und Mitarbeiter (31) beobachteten anhand einer Gruppe von 11 Patienten und Rosenthal und Mitarb. (38) anhand einer Gruppe von 40 Patienten eine umgekehrte Abhängigkeit zwischen 2,3-DPG und arteriellem Sauerstoffdruck, die einen Einfluß des Verhältnisses von Desoxy- zu Oxyhämoglobin vermuten läßt.
Die letztgenannte Gruppe untersuchte die Beziehung von 2,3-DPG oder P_{50} zum Hämoglobinspiegel, zum systemischen Blutfluß, zum systemischen Sauerstofftransport oder arterio-venöser Sauerstoffdifferenz, konnte jedoch keine definitive Beziehung herstellen.

Auch Morse, Cassels und Holder konnten in einem Krankengut von 18 Patienten keine Beziehung herstellen zwischen P_{50} und Sauerstoffkapazität, Sauerstoffsättigung oder pH. (29)

Nach Untersuchungen von Bürkmann und Mitarb. (10) an einer Gruppe von 10 Patienten über den Einfluß des pH auf die Sauerstoffaffinität bei zyanotischen kongenitalen Herzvitien konnte nur bei 4 Personen eine Änderung im pH-Wert eine Erklärung für eine P_{50}-Erhöhung bieten.

Torrance und Mitarb. (45) stellten fest, daß Patienten mit zyanotischen Herzvitien wohl einen erhöhten 2,3-DPG-Spiegel, jedoch einen normalen pH-Wert haben.

Daß andere, bis jetzt noch nicht identifizierte Faktoren 2,3-DPG und die Sauerstoffaffinität unter bestimmten Umständen beeinflussen, lassen Ergebnisse von Rosenthal und Mitarbeiter (38) vermuten, die sie bei Kindern mit kongenitalen Herzvitien, die einer Operation unterzogen wurden, gefunden haben.

Sie beobachteten, daß der 2,3-DPG-Spiegel postoperativ bei 13 von 14 Patienten um 27% anstieg, und zwar mit einem Maximum am 9. Tag. Dieser Anstieg konnte durch Änderung von pH, anorganischem Phosphat, arterieller Sauerstoffsättigung oder Hämoglobin nicht erklärt werden.
Diese Änderung scheint nicht mit dem verabreichten Blut oder dem Zellalter der Erythrozyten zu korrelieren. Der Grund dieser Erhöhung ist unklar.

Die Frage, ob bei Kindern mit zyanotischen kongenitalen Herzvitien eine Eisentherapie durchgeführt werden soll, läßt sich auf Grund der hier gemachten Untersuchungen schwer beantworten.
Es konnte keine signifikante Änderung der 2,3-DPG-Konzentration vor und nach Eisenmedikation festgestellt werden; auch ein Effekt der Eisengabe auf die Höhe des Hämatokrits ließ sich nicht nachweisen. Es besteht die Möglichkeit, daß innerhalb des Behandlungszeitraums ein kleinerer Effekt zu erwarten war, als mit der Meßmethode erfaßt werden konnte. Eventuell müßte die Eisenmedikation über einen längeren Zeitraum fortgesetzt werden, um anhand der Parameter, die wir untersucht haben, die Wirksamkeit der Eisengabe nachweisen zu können.

6. Zusammenfassung:

1. Es wurde eine Literaturübersicht gegeben über die Funktion und Regulation des 2,3-DPG im Erythrozyt unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.

2. Es wurden 13 Kinder mit zyanotischen Vitien untersucht; teilweise waren diese Kinder vor den hier durchgeführten Messungen einer Palliativoperation zugeführt worden; alle hier untersuchten Kinder zeigten eine mäßige bis deutliche Hämatokriterhöhung.

3. Bei 9 dieser 13 Kinder wurden vor und nach probatorischer oraler Eisenmedikation 2,3-DPG-Messungen durchgeführt.

4. Bei den hier untersuchten Kindern fanden sich vor Eisengabe erhöhte 2,3-DPG-Spiegel im Erythrozyten.

5. Es ließ sich keine signifikante Änderung im 2,3-DPG-Spiegel der Erythrozyten und der Hämatokritwerte nach probatorischer Eisenmedikation von 1,5mg/kg KG/die über sechs Wochen feststellen.

7. Anhang:

7.1. Statistik:

Die zweidimensionale Normalverteilung : Regression zweiter Art.
Gegeben seien n Beobachtungspaare x, y.
Sowohl x als auch y sind zufällige, normalverteilte Veränderliche.
Bei der Regression zweiter Art unterscheidet man zwei Regressionsgeraden:

$$Y = \bar{y} + b_{yx} (x - \bar{x})$$

$$X = \bar{x} + b_{xy} (y - \bar{y})$$

Man schließt bei der Regression zweiter Art von x auf y nach

$Y = \bar{y} + b_{yx} (x - \bar{x})$ und von y auf x auf Grund von

$X = \bar{x} + b_{xy} (y - \bar{y})$.

Ein weiterer Parameter der Regression zweiter Art ist der Korrelationskoeffizient r. Er ist ein Maß für die stochastische Abhängigkeit der beiden Variablen x und y.
Sein Wert kann zwischen -1 und +1 variieren.
Beträgt er -1 oder +1, so sind die beiden Veränderlichen total voneinander abhängig und die beiden Regressionsgeraden X und Y fallen zusammen.
Beträgt er Null, so sind die Veränderlichen voneinander unabhängig; die beiden Regressiongeraden Y und X stehen senkrecht aufeinander und verlaufen parallel zu den Koordinatenachsen. (16)

7.2. Statistische Auswertung der Ergebnisse:

1. X - Y

   Hb - 2,3-DPG — Patienten 1 - 9

   a_o = 11,76

   Steigung: - 0,30

   r = 0,68

   Achsabschnitt a_o = 11,01

   a_1 = - 0,39

   r = 0,69

2. Y - X

   art. O_2 - 2,3-DPG — Pat. 1 - 9

   a_o = 50,3

   a_1 = 4,4

   r = 0,45

   a_o = 71,1 — Pat. 1 - 13

   a_1 = 1,4

   r = 0,15

3. ven. O_2 - 2,3-DPG — Pat. 1 - 9

   a_o = 55

   a_1 = 0,9

   r = 0,1

   a_o = 69,2 — Pat. 1 -13

   a_1 = -1,6

   r = 0,2

4. Diff. O_2 - 2,3-DPG — Pat. 1 - 9

   a_o = 20,8

   a_1 = -0,7

   r = 0,3

a_o = 26,8 Patienten 1 - 13
a_1 = -1,0
r = 0,3

5. X - Y
HK - 2,3-DPG Pat. 1 - 9
a_o = 13,3
a_1 = -0,13
r = 0,83

a_o = 13,02 Pat. 1 - 13
a_1 = -0,13
r = 0,76

2. Messung:

X - Y
HK - 2,3-DPG Pat. 1 - 9
a_o = 11,44
a_1 = -0,094
r = 0,597

8. Literaturangaben:

1. ARNONE, A.:
X-ray diffraction study of binding of 2,3 diphosphoglycerate to human deoxyhemoglobin.
Nature, 237, 146 (1972)

2. ASTRUP, P., RÖRTH, M., THORSHANGE, C.:
Dedendency on acid-base status of oxyhemoglobin dissociation on 2,3-diphosphoglycerate level in human erythrocytes. In vivo studies.
Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 26, 47-52 (1970)

3. BELLINGHAM, A.J., GRIMES, A.J.:
Annotation
British Journal of Haematology 25, 555-561 (1973)

4. BELLINGHAM, A.J., DETTER, J.C., LENFANT, C.:
Regulatory mechanismus of hemoglobin oxygen affinity in acidosis and alcalosis.
Journal of Clinical Investigations 50, 700-704 (1971)

5. BENESCH, R.,,BENESCH, R.E.:
The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin.
Biochemical and Biophysical Research Communications 26, 162 (1967)

6. BENESCH, R., BENESCH, R.E.:
The influence of organic phosphates on the oxygenation of hemoglobin (abstract)
Federation Proceedings 26, 673 (1967)

7. BENESCH, R., BENESCH, R.E., ENOKY, Y.:
The interaction of hemoglobin and its submits with 2,3-diphosphoglycerate.
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 61, 1102 (1968)

8. BENESCH, R.:
Oxygenation of Hb in the presence of 2,3-diphosphoglycerate. Effect of T, pH, ionic strenth and Hb-concentration.
Biochemistry 8, 2567 (1969)

9. BOHR, Chr., HASSELBACH, K., KROGH, A.:
Über einen in biologischer Beziehung wichtigen Einfluß, den die Kohlensäurespannung des Blutes auf dessen Sauerstoffbindung übt.
Scandinavisches Archiv für Physiologie 16, 402 (1909)

10. BÜRKMANN, J., BEHN, P., HEROLD, B., ROSENKRANZ,U.:
Zum Verlauf der O_2-Dissoziationskurve bei Gesunden sowie bei Kranken mit angeborenem zyanotischem Herzfehler bez. chronischem obstruktivem Lungenemphysem.
Respiration 28, 36-53 (1971)

11. BUNN, H.F., BRIEHL, R.W.:
The interaction of 2,3-diphosphoglycerate with various human hemoglobins.
Journal of Clinical Investigations 48, 311 (1970)

12. BURMAN, D.:
Iron deficiency in infants and children.
Clinics in Haematology 2, 257 (1973)

13. CHANUTIN, A., CURNISH, R.R.:
Effect of inorganic and organic phosphates on formation of hemoglobinphosphate complexes as determined by electrophoresis.
Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 120, 291 (1965)

14. CHANUTIN, A., CURNISH, R.R.:
Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes.
Archives of Biochemistry and Biophysics 121, 96 (1967)

15. DE VERDIER, C.-H., GARBY, L.:
Low binding of 2,3-diphosphoglycerate to hemoglobin F. A contribution to the knowlegde of the binding site and explanation for the high oxygen affinity of foetal blood.
Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 23, 149 (1969)

16. DIEM, K. LENTNER, C.:
Wissentschaftliche Tabellen
7. Auflage, Wehr (Baden), Geigy Pharmazeutika (1973)

17. GEKELER, E.:
Vergleichende zytochemische Untersuchungen des Nicht-Hämoglobineisens in Knochenmarkzellen zur Frage des Eisenmangels bei Kindern mit angeborenen cyanotischen Herzfehlern.
Inaug.-Diss. Tübingen 1977

18. GRASER, F.:
Die nichtentzündlichen Venenthrombosen als Komplikation eines angeborenen Herzfehlers.
Zeitschrift für Kinderheilkunde 70, 142 (1951)

19. GREENWALD, J.:
A new type of phosphoric acid compound isolated from blood, with some remarks on the effect of substitution on the rotation of L-glyceric acid.
Journal of Biological Chemistry 63, 339 (1925)

20. GUEST, G.M., RAPOPORT, S.:
Role of acidsoluble phosphorus compounds in red blood cells.
American Journal of Diseases of Children 58, 1072 (1939)

21. GUTHEIL, H.:
Zerebrale Komplikationen bei angeborenen Herzfehlern.
Zeitschrift für Kinderheilkunde 84, 696 (1960)

22. HEATH, D., DU SHANE, J.W., WOOD, E.W., EDWARDS, J.E.:
The aetiology of pulmonary thrombosis in cyanotic congenital heart disease.
Thorax 13, 213 (1958)

23. HUHNSTOCH, K., KUSCHKA, W.:
Diagnose und Therapie in der Praxis.
4. Auflage Berlin, Heidelberg, New York, Springerverlag 1976

24. JÜNEMANN, M.:
Dissertation, Tübingen 1978

25. KAPLAN, S., LYON, R.A.:
congenital heart disease.
Textbook of Pediatrics, Sounders, Philadelphia 1969

26. KRIMSKY, I.:
D-Glycerat-2,3-diphosphat in: H.H. Bergmeyer (ed): Methoden der enzymatischen Analyse.
Weinheim, Verlag Chemie 1970

27. LENFANT, C., TORRANCE, J., ENGLISH, E., FINCH, C.A., REYNAFARJE, C., RAMOS, J., FAURA, J.:
Effect of altitude on oxygen binding by hemoglobin and organic phosphat levels.
Journal of Clinical Investigation 47, 2652 (1968)

28. MASUR, H.-J.:
Eine modifizierte Methode zur Bestimmung des Erythropoetingehaltes im Urin von Normalkindern an polyglobulen Mäusen.
Inaug.-Diss. Tübingen 1977

29. MORSE, M., CASSELS, D.E., HOLDER, M.:
The position of the oxygen dissociationscurve of the blood in cyanotic congenital heart disease.
Journal of Clinical Investigation 29, 1098-1103 (1950)

30. OSKI, F.A., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M.:
The red cell, 2,3-diphosphoglycerate, and tissue oxygen release.
The Journal of Pediatrics 77, 941-956 (19707

31. OSKI, F.A., GOTTLIEB, A.J., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M., MILLER, W.M.:
Red cell 2,3-diphosphoglycerate levels in subjects with chronic hypoxemia.
New England Journal of Medicine 21, 1165-66 (1969)

32. OSKI, F.A., GOTTLIEB, A.J., MILLER, W.M., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M.:
The effect of deoxygenation of adult and fetal hemoglobin on the synthesis of red cell 2,3-diphosphoglycerate and its in vivo consequences.
Journal of Clinical Investigation 49, 400-407 (1970)

33. PHOROPHOTKUL, C., ROSENTHAL, A., BERENBERG, W., NADAS, A.S.:
Cerebrovascular accidents in infants and children with cyanotic congenital heart disease.
Pediatric Researche 6, 329 (1972)

34. PRADER, A., ROSSI, E.:
Blutuntersuchungen beim Morbus caeruleus.
II. Eisen- und Hämoglobinstoffwechsel.
Helvetica paediatrica Acta 5, 159 (1950)

35. RAPOPORT,S.;
Über Phosphoglyzerinsäure als Transportsubstanz des Blutphosphors und ihr Verhalten bei experimenteller Ammonchloridazidose.
Biochemische Zeitschrift 289, 411 (1936)

36. RAPOPORT, S., MARETZKI, D., SCHEWE, Ch., JAKOBASCH, G.:
Control of glycolysis in the erythrocyte on the levels of 1,3-DPG.
Bezon Symposium (Ed.) Rørth, M., Astrup, P.
Copenhagen (1972)

37. ROSE, A.B.:
Purification and properties of diphosphoglyceratemutase from human erythrocytes.
Journal of Biological Chemistry 243, 4810 (1968)

38. ROSENTHAL, A., MEUTZER, W.C., EISENSTEIN, E.B., NATHAN, D.G., NELTON, N.N., NADAS, A.S.:
the role of red blood cell organic phosphates in adaptation to congenital heart disease.
Pediatrics 47, 537-547 (1971)

39. RUDOLPH, A.M., NADAS, A., BORGES, W.:
Hematologic adjustments to cyanotic congenital heart disease.
Pediatrics 11, 454-463 (1953)

40. SIESSEGGER, A.:
Bestimmung von Erythropoetin und anderen hämatologischen Parametern bei Kindern mit cyanotischen Herzvitien.
Inaug.-Diss. Tübingen 1977

41. SWOBODA, W., WEIPPL, G.:
Probleme der Eisentherapie im Kindesalter.
Therapeutische Umschau 16, 117 (1959)

42. TAUSSIG, H.B.:
Tetralogic of Fallot, especially care of cyanotic infants and child.
Pediatrics 1, 307 (1948)

43. TAUSSIG, H.B.:
Congenital Malformations of the heart,
Vol. I: General Considerations.
Commonwealth Fund, Harvard University Press,
Cambrigde (Massachusetts) 1960

44. TORRANCE, H., JACOBS, P., RESTREPO, A., ESCHBACH, J., LENFANT, C., FINCH, D.:
Intraerythrocyte adaptation to anemia.
New England Journal of Medicine 283, 165 (1970)

45. TORRANCE, J.D., LENFANT, C., CRUZ, J., MARTICORENA, E.:
Oxygen transport mechanisms in residents at high altitude.
Respiration Physiology 11, 1-15 (1970)

46. TYUMA, J.:
Effect of 2,3-diphosphoglycerate on the cooperativity in oxygen.
Biochemical and Biophysical Research Communications 43, 423 (1971)

47. VERSMOLD, H.T., LINDERKAMP, C., DÖHLEMANN, C., RIEGEL, K.P.:
Oxygen transport in congenital heart disease: Influence of fetal hemoglobin, red cell pH and 2,3-diphosphoglycerate.
Pediatric Research 10, 566-570 (1976)

48. WEIPPL, G.:
Eisenmangelanämien im Kindesalter.
Stuttgart, Bücherei des Pädiaters (1974)

49. WEIPPL, G.:
Eisenstoffwechsel und Serumeisen bei Polyglobulie
Neue österreichische Zeitschrift für Kinderheilkunde 4, 397 (1959)

50. WOODSON, R.D.:
Red cell adaptation in cardiorespiratory disease.
Clinics in Hematology 3, 627-647 (1974)

Lebenslauf

Am 9.1.1952 wurde ich, Andreas Paul Josef Beiser, als 5.Kind des Arztes Dr. Paul Beiser und dessen Ehefrau Margot Beiser, geb. Stöckle, in Stuttgart geboren.

Von 1958-1962 besuchte ich die Grundschule in Wernau/ Neckar. 1962 wechselte ich an das humanistische Gymnasium in Bad Wurzach, wo ich am 30.6.1970 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Wintersemester 1970/71 bis zum Wintersemester 1976/77 studierte ich an der Universität Tübingen Humanmedizin. Dort legte ich auch 1973 die ärztliche Vorprüfung und am 17. Dez. 1976 das medizinische Staatsexamen ab. Meine Medizinalassistentenzeit absolvierte ich vom März 1977 bis März 1978 an den städt. Krankenanstalten Villingen-Schwenningen.

Meine Approbation als Arzt erhielt ich am 3, März 1978.

Seit März 1978 leiste ich meinen Grundwehrdienst ab.